

АННОТАЦИЯ

Диссертации на соискание степени доктора философии (PhD)
по образовательной программе 8D05101 – Биология

Мадиевой Аиды Наримановны

Криоконсервация семенного материала сортов суданской травы и разработка методов краткосрочного и долгосрочного хранения

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена изучению условий криоконсервации семенного материала сортов суданской травы и разработка методов краткосрочного и долгосрочного хранения.

Актуальность темы. Создание стабильной и высокопитательной кормовой базы является одним из основных факторов в обеспечении продуктивности сельскохозяйственных животных.

Увеличение продуктивности животноводческой продукции позволит более полно обеспечить продуктами питания животного происхождения внутренний рынок Центрального Казахстана, и повысить его экспортный потенциал и конкурентоспособность, а также создать дополнительные рабочие места [1].

Это позволит увеличить ассортимент кормовых культур новыми культурами, что будет способствовать укреплению кормовой базы для животноводства региона, и снижению себестоимости животноводческой продукции [1].

Стоит отметить, что большая часть территории Казахстана расположена в аридных условиях, характеризующимися высокими температурами в летний период и дефицитом осадков.

В последние годы проблема климатических изменений приобретает все более выраженный характер и становится значимым фактором, влияющим на различные сферы человеческой деятельности. Особенно остро ее последствия проявляются в сельском хозяйстве, где уровень продуктивности растениеводства напрямую зависит от природно-климатических условий [2, 3]. Развитие аграрного сектора в значительной степени связано с повышением эффективности животноводства, что, в свою очередь, невозможно без достаточного обеспечения кормовыми ресурсами. В засушливых регионах формирование стабильной кормовой базы затруднено, вследствие чего наблюдается дефицит кормов, наиболее заметный во второй половине летнего периода [4].

Существенные изменения климатических условий привели к смещению границ агроклиматических зон, формирование которых связано с длительностью периода активной вегетаций, определяемого суммой температур выше 10°C. Наблюдаемое повышение средних температур, снижение количества осадков, а также увеличение частоты и продолжительности засух отрицательно сказываются на продуктивности

сельскохозяйственных культур и ухудшают качество получаемой продукции [2, 5].

При интенсификации животноводства возникает необходимость одновременно увеличивать производство доступных по стоимости кормов и обеспечивать их высокое качество на постоянной основе [2].

Повысить результативность производства можно комплексно: наряду с совершенствованием системы земледелия важно грамотно подбирать культуры и сорта, а также учитывать особенности агроклиматических зон при их размещении по территории республики. Такой подход способствует снижению неблагоприятного воздействия погодных факторов [2, 6].

При дефиците влаги особое значение приобретают кормовые культуры, способные давать стабильные и высокие урожаи, а также содержащие большое количество усвояемого протеина. В их числе выделяется суданская трава [4].

Суданская трава отличается прежде всего своей засухоустойчивостью, высокой продуктивностью, высоким качеством зеленой массы, повышенным содержанием сахаров и хорошей поедаемостью сельскохозяйственными животными.

Успешность внедрения данной культуры в производственную практику во многом определяется степенью развития системы семеноводства и уровнем обеспеченности семенным материалом. Формирование собственных ресурсов семян выступает ключевым фактором, обеспечивающим её широкое использование в кормопроизводстве [2].

На современном этапе научно-технологического прогресса в области биотехнологии внедряются усовершенствованные методы низкотемпературного сохранения семенного материала растений. Это открывает возможности для формирования долговременных генетических резервов и быстрого получения необходимого количества посадочного материала требуемых культур. Криоконсервация представляет собой хранение семян растений в сверхнизкой температуре (-196°C) на длительный период времени с сохранением жизнеспособности семян.

В Казахстане применение технологий низкотемпературного хранения семенного материала остаётся недостаточно развитым. Научные исследования затрагивают криоконсервацию семян различных групп растений, а также отдельных биологических объектов, включая меристемы, пыльцу, почки и черенки.

Ранее криоконсервация практически не была использована для кормовых культур, имеется ограниченное количество литературных источников. Так, имеются данные о коллекции образцов сельскохозяйственных культур в ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И.Вавилова» (ВИР), где хранится коллекция бобовых, злаковых [7].

Криоконсервацию семян суданской травы ранее не проводили.

Актуальностью исследования является внедрение сортов суданской травы: Ника, Алина, Тугай, Новосибирская 84 на территории

Карагандинской области как одной из наиболее подходящих засухоустойчивых культур для аридного региона и создание генного банка семян методом криоконсервации с использованием (подбором) оптимального криопротектора для каждого сорта.

Таким образом, выполнение научных исследований по разработке основ сохранения семян при помощи методов криоконсервации является важным и актуальным направлением, направленным на обеспечение устойчивого развития аграрного сектора региона.

Цель диссертационной работы изучение влияния сверхнизких температур на семенной материал сортов суданской травы Тугай, Ника, Новосибирская 84, Алина (*Sorghum*drummondii* (Nees ex Steud.) Millsp. & Chase) и разработка методов краткосрочного и долгосрочного хранения.

Задачи исследования:

1. Подобрать оптимальные условия для размораживания семян в жидком азоте и оптимальные криопротекторы для криоконсервации семян 4-х сортов суданской травы, а также определить их режимы оттаивания после криохранения;

2. Определить эффективность воздействия физических методов предпосевной обработки на семена исследуемых сортов с помощью лазерного излучения, магнитного облучения, барботирования;

3. Установить влияния краткосрочного и долгосрочного хранения семян при сверхнизких температурах на показатели жизнеспособности семян исследуемых сортов;

4. Провести интродукцию растений суданской травы сортов Алина, Ника, Новосибирская 84, Тугай на территории г.Караганды, исследовать их этапы онтогенеза, ритма роста и развития суданской травы, оценить кормовую ценность сортов суданской травы в условиях Карагандинской области;

5. Выявить особенности анатомического строения стеблей и корней 4-х сортов суданской травы до и после криоконсервации.

Объекты исследования: семена суданской травы сортов «Ника», «Новосибирская 84», «Тугай», «Алина». Семена были предоставлены ТОО «Научно-производственный центр зернового хозяйства им. Бараева», пос. Шортанды, Акмолинская область. Семена сорта «Алина» были предоставлены Жезказганским ботаническим садом Улытауской области филиалом РГП на ПХВ «Институт ботаники и фитоинтродукции» КЛХЖМ МЭПР РК.

Методы исследования: оценка семенной всхожести и биологии прорастания, криоконсервация семян суданской травы путем прямого погружения в жидкий азот, размораживание семян с использованием двух методов размораживания (медленное и быстрое размораживания), оценка влияния физических методов на всхожесть семян суданской травы, таких как лазерное излучение, магнитное поле, барботирование, анатомическое изучение строения стебля и корня растений, определение кормовой ценности суданской травы. Статистическую обработку и графическую визуализацию

полученных данных проводили с помощью среды R-studio и программного обеспечения Microsoft Excel.

Научная новизна исследования:

1. Впервые проведена работа по изучению жизнеспособности семенного материала 4 сортов суданской травы, изучены морфометрические и анатомические показатели проростков до и после криоконсервации;

2. Впервые выявлено действие криопротекторов на всхожесть и энергию прорастания семян суданской травы, определен наиболее подходящий криопротектор для каждого из сортов;

3. Впервые изучено влияние физических факторов на всхожесть семян суданской травы, такие как магнитное поле, лазерное облучение, барботирование.

4. Впервые интродуцированы растения суданской травы сортов Алина, Ника, Новосибирская 84, Тугай на территории г.Караганды, изучены фенологические фазы развития суданской травы в новых условиях, проведена оценка кормовой ценности сортов суданской травы в условиях Карагандинской области.

Теоретическая и практическая значимость. Исследование условий криоконсервации семян сортов суданской травы показало, что оптимальной тарой для криозамораживания являются пластиковые криопробирки.

Определено, что при криоконсервации семян суданской травы следует использовать метод медленного размораживания при комнатной температуре.

Доказано, что семена сортов Алина и Ника могут храниться при сверхнизких температурах без потери жизнеспособности до 9 месяцев, в то время как для сорта Тугай и Новосибирская 84 рекомендовано кратковременное хранение не более 3 месяцев в связи со снижением всхожести при более длительном криохранении.

В качестве криопротекторов рекомендовано использовать DMSO, PVS2, этиленгликоль, пропиленгликоль. Не рекомендуется использовать глицерин в качестве криопротектора.

Выявлено, что предпосевная обработка семян физическими методами обработки положительно влияет на всхожесть и энергию прорастания семян суданской травы.

Определено, что после воздействия сверхнизких температур в анатомическом строении клеток между вариантами контрольных растений и после криоконсервации имеются достоверно значимые различия в размерах клеток ксилемы корня, клеток ксилемы стебля, клеток паренхимы стебля, клеток эпидермиса стебля.

Оптимальный срок посева – весенний посев.

Разработанный алгоритм криоконсервации и методические рекомендации позволили внедрить семена суданской травы 4 сортов в криогенный банк кормовых культур исследовательского парка биотехнологии и экомониторинга БГФ КарНИУ им. Е.А.Букетова.

Методические рекомендации по криоконсервации суданской травы могут быть полезны фермерам, главам крестьянских хозяйств по выращиванию изучаемых сортов в условиях засушливого региона г. Караганда.

Результаты научных исследований внедрены в практическую деятельность и учебный процесс.

Основные положения выносимые на защиту:

1. Наиболее оптимальным способом размораживания семян является медленная разморозка семян суданской травы в условиях комнатной температуры.

2. Для эффективной криоконсервации семян суданской травы рекомендовано использовать криопротекторы DMSO, PVS2, этиленгликоль, пропиленгликоль.

3. Физические методы обработки, такие как лазерное излучение, магнитное поле, барботирование положительно влияют на всхожесть и энергию прорастания семян суданской травы

4. Длительное хранение семян в течение 6 и 9 месяцев снижает всхожесть по сравнению с контролем. Для сортов суданской травы рекомендовано использовать краткосрочное хранение семян в жидком азоте в течение 3 месяцев.

5. Криоконсервация семян суданской травы не снижает кормовую ценность растения.

6. В анатомическом строении клеток между вариантами контрольных растений и после криоконсервации имеются достоверно значимые различия в размерах клеток ксилемы корня, клеток ксилемы стебля, клеток паренхимы стебля, клеток эпидермиса стебля.

Основные результаты:

1. Определено, что замораживание семян суданской травы сортов Алина и Ника эффективно как в конвертах из фольги, так и в пластиковых пробирках, размораживание семян результативно как при комнатной температуре, так и на водяной бане. Для сортов Тугай и Новосибирская 84 оптимальный метод разморозки - медленная разморозка при комнатной температуре, т.к. при условиях быстрой разморозки наблюдается снижение всхожести и энергии прорастания семян. Наиболее оптимальные криопротекторы для сортов суданской травы DMSO, PVS2, этиленгликоль, пропиленгликоль. Для криохранения семян суданской травы не рекомендуем использовать глицерин, сахарозу и глюкозу.

2. Магнитное поле, лазерное излучение, барботирование не оказали эффекта повышения всхожести и энергии прорастания семян, но и не снижали их жизнеспособность, результаты были на уровне контрольного образца. Однако не рекомендуется использование барботирования после криоконсервации, т.к. на всех сортах отмечено достоверно значимое снижение показателей жизнеспособности семян исследуемых сортов. Для семян сорта Тугай не рекомендуем использовать лазерное излучение в качестве предпосевной обработки.

3. Доказано, что семена сортов Алина и Ника могут храниться при сверхнизких температурах без потери жизнеспособности до 9 месяцев, в то время как для сорта Тугай и Новосибирская 84 рекомендовано кратковременное хранение не более 3 месяцев в связи со снижением всхожести при более длительном криохраниении.

4. Анализ кормовой ценности показал высокую питательность корма сортов суданской травы, выращенных в условиях г.Караганды. Несмотря на то, что показатели по годам менялись, обменная энергия и кормовая единица была в пределах нормы, что свидетельствует о высоких кормовых качествах корма. Анализ структуры урожая суданской травы в период сбора урожая показал, что данные в варианте с криоконсервацией по высоте растений достоверно выше, чем на контроле. Результаты опыта указывают, что криоконсервация положительно повлияла на семена суданской травы на опытном участке, благодаря чему было получено больше семян, чем на контроле.

5. Изучение анатомического строения суданской травы показало, что между вариантами контроля и вариантом после криоконсервации наблюдаются достоверно значимые различия по размерам клеток ксилемы корня, по размерам клеток эпидермиса, паренхимы и ксилемы стебля, что объясняет факт того, почему растения после криоконсервации имеют высоту достоверно выше контроля. Это обеспечивается благодаря крупным сосудам ксилемы, по которым питательные вещества быстрее и лучше транспортируются по растению тем самым обеспечивая хороший рост в высоту.

Внедрение результатов работы.

Результаты исследований внедрены в учебный и научный процесс лаборатории биотехнологии и экомониторинга КарНИУ им. Е.А. Букетова «Рекомендации по криоконсервации семенного материала» (приложение Б), а также в учебный процесс Института биологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет» для преподавания дисциплин «Большой практикум по ботанике», «Репродуктивная биология», «Анатомия и морфология растений» студентам направления 06.03.01 Биология (бакалавриат), 06.04.01 Биология (магистратура) (приложение В)

Связь данной работы с научно-исследовательскими проектами.

Диссертационная работа выполнена в рамках реализации грантового проекта Комитета науки МОН РК №АР09259548 «Криоконсервация семенного материала дикорастущих и лекарственных растений и организация банка краткосрочного и долгосрочного хранения» (2021-2023 гг.).

Личный вклад автора. В получении научных результатов автор принял личное участие во всем комплексе исследований на протяжении 6 лет (2020-2026 гг.) Планирование научного эксперимента, подготовка опытных участков, закладка полевых и лабораторных опытов по криоконсервации семян суданской травы, проведение анатомических срезов растений, сбор и проведение статистического анализа данных, обобщение и научное обоснование полученных результатов осуществлено автором лично. Лично

сформулированы основные положения, выносимые на защиту, выводы, написаны основные разделы диссертационного исследования. Лично обработаны данные для написания и публикации научных статей. Личный вклад автора составил 92%.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа включает введение, 5 основных разделов, заключение, список использованных источников и приложение. Диссертация изложена на 150 страницах, состоит из 5 глав, включает 67 рисунков, 11 таблиц, 8 приложений. Список использованных источников состоит из 189, в том числе 43 на иностранном языке.

Апробация работы.

Итоги диссертационного исследования были обсуждены и доложены на:
1) международной научно–практической конференции «Независимость Казахстана: аспекты сохранения биоразнообразия» посвященная 80-летию доктора биологических наук, профессора, Почетного члена Национальной Академии Наук Республики Казахстан, академика КазНАЕН Мухитдинова Наштая Мухитдиновича международной научно–практической конференции «Независимость Казахстана: аспекты сохранения биоразнообразия» посвященная 80-летию доктора биологических наук, профессора, Почетного члена Национальной Академии Наук Республики Казахстан, академика КазНАЕН Мухитдинова Наштая Мухитдиновича (Алматы, 2021 - 26 ноября);
2) Международной научно-теоретической конференции «Пищевая безопасность: национальные и глобальные аспекты» (Самарканд, Узбекистан, 15–16 октября 2021 г.), 3) XV Международной научно-практической конференции (Караганда, 20–21 января 2023 г.).

Результаты диссертационного исследования ежегодно заслушивались на заседаниях кафедры физиологии биолого-географического факультета Карагандинского университета им. Е.А. Букетова. По материалам диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 1 статья в научном журнале «Research on Crops», входящем в наукометрическую базу данных Scopus (38%), 3 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования РК «Bulletin of the Karaganda University, series biology», а также разработаны практические рекомендации по криоконсервации семенного материала суданской травы (Приложение А).